



A PhD értekezés összefoglalása



**A plazma membrán mikrodomének szabályzó  
szerepe a sejtek növekedési és stressz érzékelési  
folyamataiban**

**Csoboz Bálint**

Témavezető: Prof. László Vígh

Biológia Doktori Iskola  
Szegedi Tudományegyetem

Biokémia Intézet  
Szegedi Biológiai Kutatóközpont  
Magyar Tudományos Akadémia

Szeged  
2018

## Bevezetés

---

A plazma membrán azon helyzetéből adódóan, hogy a sejt legkülsőbb határát képezi, központi szerepet játszik a környezetből érkező jelek érzékelésében és továbbításában. A lipid raft struktúrák nagymértékben felelősek a membrán heterogenitásának kialakításában és ezzel lehetővé teszik egy magasabb szintű membrán-szervezettség létrejöttét. A membrán heterogenitásának nagy szerepe van különböző jelátviteli folyamatokban, mivel lehetővé teszi egyes jelátviteli molekulák platformokba való rendeződését. A lipid raft struktúrákban található fehérjék komoly szerepet játszanak több sejt esemény, mint pl. a stressz érzékelés, sejt növekedés és túlélés, jelátviteli folyamataiban. A doktori disszertáció keretében bemutatott munka elsősorban a lipid raftok által szabályozott jelátvitel két aspektusát vizsgálja.

A munka első része mélyebb betekintést ad a membrán struktúrát befolyásoló stressz következtében fellépő membrán adaptációs folyamatok mechanizmusába fókuszálva a stressz következtében fellépő stressz fehérje indukcióra. A membrán stresszel kapcsolatos kutatásaim rámutattak a HSP25 fehérje központi szerepére a membrán homeosztázis fenntartásában. Kísérleteimben sikerült a HSP25 fehérje kifejeződésének emelkedését kimutatnom mesterséges membrán fluidizáció hatására. Továbbá a kutatásaim fényt derítettek a HSP25 egy eddig ismeretlen tulajdonságára, ami a fehérje membrán fluidizációt kivédő hatásában nyilvánult meg. Ezen kísérletek által sikerült a HSP25-t egy membrán puffer kapacitást biztosító ágensként karakterizálnom, amely stressz hatás alatt segít a membrán struktúra fenntartásában. Ezen túl a HSP25 lehetséges membrán interakcióját sikeresen szűkítettem le a membránnal való közvetlen interakcióra.

A disszertáció második része a membrán tumoros folyamatokban kifejtett szerepére koncentrált egy PRL3 nevű membrán asszociált onkogén vizsgálata által. A kísérleteimben sikeresen írtam le a PRL3 fehérje kifejeződésének növekedését DNS károsító anti-tumor terapeutikumok hatására, tumor sejtekben. Ezen túl kutatásaim kapcsolatba hozták a terápia hatására megemelkedett PRL3 kifejeződését a tumor sejt megnövekedett növekedési képességével. A PRL3 hatásmechanizmusát vizsgáló kísérleteimben sikerült karakterizálnom a fehérje asszociációját a caveola típusú lipid raft doménekhez. Valamint ebből kiindulva sikeresen írtam le a PRL3 expresszió hatásával összefüggő jelátviteli változásokat.

## Célkitűzések

---

A disszertáció keretein belül bemutatott munka olyan a plazmamembránnal összefüggő sejtbiológiai jelenségeket vizsgál, amelyek meghatározó szerepet játszanak a sejtek fiziológiai és patofiziológiai folyamataiban. A doktori munka célja a stressz válasszal és tumoros betegségekkel kapcsolatos folyamatok mélyebb megértése volt a membrán mikrodoménnal való összefüggésük kontextusában. Ennek érdekében a következő kérdéseket vizsgáltuk:

- **A membrán asszociált stressz válasz és stressz-adaptáció kontextusában:**
  - Tapasztalható-e és ha igen akkor milyen mértékű a HSP25 fehérje kifejeződése membrán fluidizáló hatások következtében?
  - Befolyásolja-e a HSP25 jelenléte a vizsgált sejtek túlélését membránt érő stressz hatások alatt?
  - Hatással van-e a HSP25 a plazma membrán struktúrájára, és ha igen ez értelmezhető e mint a fluidizáló stressz hatásra adott adaptív válasz?
  
- **A plazma membránnal összefüggő onkogén jelátvitellel kapcsolatban:**
  - Milyen mértékű a PRL3 fehérje kifejeződése a vizsgált melanóma sejtekben és vannak e olyan stressz függő faktorok amelyek összefüggésbe hozhatóak a kifejeződés mértékével?
  - Hatással van a PRL3 fehérje a dolgozatban vizsgált melanóma sejtek tumoros tulajdonságaira?
  - Kapcsolatba hozható-e a PRL3 fehérje bármely speciális membrán régióval?
  - Jellemezhetőek-e membrán mikrodomén specifikus változások a PRL3 jelenlétében, amelyekre visszavezethető a PRL3 onkogén hatása?

# Anyagok és Módszerek

---

Sejttenyésztés

Transzfekció, fehérje expresszió

Western blot

Immunoprecipitáció

Rac1-GTP immunoprecipitáció

Tumor növekedési vizsgálatok

Caveolin gazdag membrán domének izolálása

Konfokális mikroszkópia

Generál polarizáció (GP) számítása di-4-ANNEPDHQ fluoresszencia értékekből

Plazma membrán izolálás

Szfingomielin gazdag membrán domének eloszlásának vizsgálata

Elektron mikroszkópia

# Eredmények

---

**A disszertáció keretein belül elért eredményeket az alábbiak foglalják össze:**

- **A membrán asszociált stressz válasz és stressz-adaptáció kontextusában:**
  - Igazoltuk a HSP25 fehérje megemelkedett kifejeződését egy mesterséges membrán fluidizáló szer, a benzyl alkohol hatására.
  - A vizsgálataink a HSP25 fehérje egy eddig ismeretlen tulajdonságára vetítettek fényt, ami abban valósult meg hogy képes volt a membránt érő fluidizáló hatás ellen hatni, mintegy puffer kapacitást biztosítva membrán a számára.
  - Igazoltuk továbbá, hogy a HSP25 e fenti szerepét a membránnal való kölcsönhatás formájában fejt ki. A HSP25 jelenlétében a membrán mikrodomének átrendeződését tapasztaltuk valamint egy kompartmentalizáltabb membrán struktúrát sikerült leírnunk.
  
- **A plazma membránnal összefüggő onkogén jelátvitellel kapcsolatban:**
  - Leírtuk a PRL3 fehérje, egy membrán asszociált onkogén, stressz függő kifejeződését kemoterápiában alkalmazott gyógyszerek jelenlétében.
  - A kísérleteink során igazoltuk a PRL3 tumor növekedést serkentő hatását.
  - Vizsgálataink során megfigyeltük, hogy a PRL3 a membrán caveola régiójába lokalizálódik valamint, hogy egy erős rigidizáló hatást fejt ki a membrán struktúrájára.
  - Bemutattuk a caveola-ban elhelyezkedő integrin béta 1 receptor defoszforilációját annak Thr788/789 aminosaván a PRL3 jelenlétében.
  - Leírtuk a Rac1 molekula aktivációját és transzlokációját a membrán caveola régiójába a PRL3 jelenlétének függvényében.
  - A Rac1 fehérjét a következő jelátviteli hálózattal kapcsoltuk össze Rac1-GTP/ /AKT/GSK3 $\beta$  amely a ciklin D1 megemelkedett magi szintjéhez vezetett.

## **A disszertációhoz kapcsolódó publikációk**

---

MTMT azonosító: 10038350

### **Chemotherapy induced PRL3 expression promotes cancer growth via plasma membrane remodeling and specific alterations of caveolae-associated signaling**

**Csobo B**, Gombos I, Tatrai E, Tovari J, Kiss A, Horvath I, Vigh L

Cell Communication and Signalling (under review)

I.F.: 3.91

### **Membrane fluidity matters: hyperthermia from the aspects of lipids and membranes.**

**Csobo B**, Balogh GE, Kusz E, Gombos I, Peter M, Crul T, Gungor B, Haracska L, Bogdanovics G, Torok Z, Horvath I, Vigh L.

Int J Hyperthermia. 2013 Aug; 29(5):491-9. doi: 10.3109/02656736.2013.808765. Epub 2013 Jul 10.

I.F.: 2.645

### **Plasma membranes as heat stress sensors: from lipid-controlled molecular switches to therapeutic applications.**

Török Z, Crul T, Maresca B, Schütz GJ, Viana F, Dindia L, Piotto S, Brameshuber M, Balogh G, Péter M, Porta A, Trapani A, Gombos I, Glatz A, Gungor B, Peksell B, Vigh L Jr, **Csobo B**, Horváth I, Vijayan MM, Hooper PL, Harwood JL, Vigh L.

Biochim Biophys Acta. 2014 Jun; 1838(6):1594-618. doi: 10.1016/j.bbamem.2013.12.015. Epub 2013 Dec 27.

I.F.: 3,498

## Társszerzői nyilatkozat

---

Mint az alábbi közlemények felelős szerzője nyilatkozom, hogy Csoboz Bálint Ph.D jelölt jelentős mértékben hozzájárult az alábbi tudományos publikáció létrehozásához és a közölt eredményeket más Ph.D értekezésben nem használjuk fel.

Membrane fluidity matters: hyperthermia from the aspects of lipids and membranes.

Csoboz B, Balogh GE, Kusz E, Gombos I, Peter M, Crul T, Gungor B, Haracska L, Bogdanovics G, Torok Z, Horvath I, Vigh L. Int J Hyperthermia. 2013 Aug; 29(5):491-9.

Prof. Dr. László Vigh

Szeged, 17.05.2018

Mint az alábbi közlemények felelős szerzője nyilatkozom, hogy Csoboz Bálint Ph.D jelölt jelentős mértékben hozzájárult az alábbi tudományos publikáció következő fejezetének elkészítéséhez:

*Stress hormones and the membrane-regulated stress response: heat shock can alter membranes indirectly through the elevation of plasma glucocorticoid levels.*

Továbbá kijelentem, hogy a publikáció e fejezetét más Ph.D értekezésben nem használjuk fel.

Plasma membranes as heat stress sensors: from lipid-controlled molecular switches to therapeutic applications.

Török Z, Crul T, Maresca B, Schütz GJ, Viana F, Dindia L, Piotta S, Brameshuber M, Balogh G, Péter M, Porta A, Trapani A, Gombos I, Glatz A, Gungor B, Peksel B, Vigh L Jr, Csoboz B, Horváth I, Vijayan MM, Hooper PL, Harwood JL, Vigh L. Biochim Biophys Acta. 2014 Jun; 1838(6):1594-618.

Dr. Zsolt TÖRÖK

Szeged, 17.05.2018